

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

## SULFATED POLYSACCHARIDE DS 4152 AND VASCULARIZATION INHIBITOR AND ANTITUMOR AGENT CONTAINING THE SAME

Patent Number: JP63119500

Publication date: 1988-05-24

Inventor(s): INOUE KAZUKIYO; others: 03

Applicant(s): DAI ICHI SEIYAKU CO LTD

Requested Patent: JP63119500

Application Number: JP19870125443 19870522

Priority Number(s):

IPC Classification: C07K15/14; A61K31/725; A61K37/02; C08B37/00; C12P19/04

EC Classification:

Equivalents: JP2544136B2

---

### Abstract

---

**NEW MATERIAL:** A sulfated polysaccharide DS 4152 having the following physical and chemical properties. Molecular weight, 29,000+ or -3,000; elemental analysis (%), C 24.42-25.76, H 3.34-3.98, N 0.51-0.89, S 10.6-11.7, P 0.77-1.06; sugar content, 57+ or -3; protein content, 1+ or -0.5; specific rotation,  $[\alpha]D_{25}=-37+$  or -1 deg. (0.5% aqueous solution); main IR absorption band, 1,240, 840 (shoulder), 810 (cm<sup>-1</sup>; KBr); solubility, easily soluble in water and almost insoluble in organic solvents such as ether, benzene, chloroform, methanol, ethanol, etc.; pH, 6-8 (3% aqueous solution); etc.

**USE:** A vascularization inhibitor and antitumor agent. The activity can be promoted when combined with a steroid drug.

**PREPARATION:** For example, pyrogenic substance, etc., having a molecular weight of  $>=15\times10^4$  are removed by a proper molecular weight fractionation method from DF 4639 separated from a cultured product of *Arthrobacter* sp. AT (FERM P-5255).

---

Data supplied from the esp@cenet database - I2

1986

① 日本国特許庁 (JP) ② 特許出願公開  
 ③ 公開特許公報 (A) 昭63-119500

④ Int.CI.  
 C 07 K 15/16  
 A 61 K 31/725

登別記号 厅内登録番号  
 ABL 8318-4H  
 ABY 7252-4C※審査請求 未請求 発明の式 5 (全13頁)

⑤ 発明の名称 硫酸化多糖体 DS 4152並びにこれを含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤  
 ⑥ 特願 昭62-125443  
 ⑦ 出願 昭62(1987)5月22日  
 ⑧ 优先権主張 ⑨ 昭61(1986)5月23日⑩ 日本 (JP) ⑪ 特願 昭61-118847  
 ⑫ 発明者 井上 和弘 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内  
 ⑬ 発明者 田中 紀子 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内  
 ⑭ 発明者 是永 博 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内  
 ⑮ 出願人 第一製薬株式会社 東京都中央区日本橋3丁目14番10号  
 ⑯ 代理人 弁理士 有賀 三季 外2名  
 最終頁に続く

## 明細書

(グラクトース相当)

1. 発明の名称	蛋白含量(%) : 1±0.5 (ローリー・フォーリン法、牛血清アルブミン標準)	
硫酸化多糖体 DS 4152 並びにこれを含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤		
2. 特許請求の範囲	(1) 比旋光度	
(1) ナトリウム塩として下記の物理化学的性質を有する硫酸化多糖体 DS 4152。	(a) $\alpha_D^{25} = -37^\circ \pm 1^\circ$ (0.5%水溶液)	
(1) 分子量(ゲルろ過法による)	(b) 赤外線吸収スペクトルにおける主要吸収帯	
29000±3000	1240, 840(弱), 810( $\text{cm}^{-1}$ ; $\text{KBr}$ )	
(2) 元素分析値	(d) 密度	
C 24.42~25.76% H 3.34~3.98%	水に易溶。エーテル、ベンゼン、クロロホルム、メタノール、エタノール等の有機溶媒には殆ど不溶。	
N 0.51~0.69% S 1.06~1.17%	(e) 遇色反応	
P 0.77~1.06%	フェノール-硫酸、アンスラシン-硫酸、ビニレット反応およびローラー・フォーリン反応	
(3) 硫酸および蛋白質の含量		
硫酸含量(%) : 57±3 (フェノール-硫酸法,		

は陽性。水解液のエルシン・モンガニ反応及びエンヒドリン反応も陽性。カルバゾール反応及び坂口反応は陰性。

(ii) 酸性、中性、鹼性的区别

pH 6~8 (3% 鹽酸水溶液)

(iii) 蛋白質及び核酸基、糖の含量

D-グルコース、D-ガラクトース、 $\alpha$ -D-N-アセチルグルコサミンの含有モル比はD-グルコースを1.0としてそれぞれ約1.0:6.1:7.3:0である。

(iv) 氨酸アミノ酸かアミノ酸

抽出水分解物のアミノ酸分析計による分析で、アラニン、グリシン、グルタミン酸、ジアミノピメタン酸、アルコオキシ酸及びムクミン酸の存在を認める。

本の発明第6項記載の血管新生抑制剤。

2. 発酸化多糖体 DS-4152 と、ステロイド剤とを有効成分として含有する抗腫瘍剤。

3. 癌弱の評価を説明

(臨床上の利用分野)

本発明は、肝臓を発酸化多糖体 DS-4152 並びにこれを有効成分として含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤並びにこれと共にステロイド剤を含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤に関する。

(従来の技術及びその問題点)

従来、ミクロコッカス sp. AT-26 の発酵生産物中に癌弱作用、免疫抑制作用およびインダーフェロン誘導作用を有する発酸化多糖体 DP-4630 が存在することが知られて

特開昭63-119500(2)

2. 発酸化多糖体 DS-4152 を有効成分として含有する血管新生抑制剤。

3. リニューマテ性固形炎、増殖性肉芽炎、肥厚、糖尿病性網膜炎、末梢児病膜症に有効を特許請求の範囲第2項記載の血管新生抑制剤。

4. 発酸化多糖体 DS-4152 を有効成分として含有する抗腫瘍剤。

5. 発酸化多糖体 DS-4152 と、ステロイド剤とを有効成分として含有する血管新生抑制剤。

6. ステロイドが細胞コレクティド膜、液体セルマント膜、エストラン膜及びアンドロスタン膜から選ばれたものである特許請求の範囲第6項記載の血管新生抑制剤。

7. リニューマテ性固形炎、増殖性肉芽炎、肥厚、糖尿病性網膜炎、末梢児病膜症に有効を特許請求の範囲第7項記載の血管新生抑制剤。

いた(特開昭58-67301号、特開昭57-42827号及び特開昭59-25329号)。

本発明者は、従々の有用性の期待される発酸化多糖体 DP-4630 について生物学的特性を明らかにすべく検討をかこつた結果、DP-4630 が強い癌弱性を有することを知った。

(問題を解決するための手段)

そこで、本発明者は、この癌弱性を有するべく、更に研究をかこつていたところ、DP-4630 は、いくつかの成分の混合物であり、そのうち DS-4152 と名づけられた一成分は癌弱性がなく、しかも優れた血管新生抑制作用及び抗腫瘍作用を有することを見出した。

特開昭63-119500(3)

更にまた、本発明者は、C008-4152とステロイド剤とを組合せると血管新生剤作用及び抗腫瘍作用が相乗的に増強されることを見出した。

本発明は、上記の如見に至くものである。その目的は、新規を保護化多糖体DS-4152を提供するものである。

更に、本発明の他の目的は、保護化多糖体DS-4152を有効成分として含有する血管新生剤用及び抗腫瘍剤を提供するものである。

更に、本発明の他の目的は、保護化多糖体DS-4152とステロイド剤とを有効成分として含有する血管新生剤用及び抗腫瘍剤を提供するものである。

本明細書中の「血管新生剤」とは、左の

通り、実体形成、組織の増殖等に歯めて重要なだけでなく、膵癌リューマチを含む慢性炎症、先天性疾患、結核病等の病的状態にシテてもその病体の過度に強く活性している血管の新生作用を弱めることをいう。したがつて、血管新生剤用は、上記血管の新生作用が顕著する新疾患、例えばリューマチ性関節炎、增殖性膀胱炎、肥厚、糖尿病性膀胱炎、未熟児腎病等の治療、予防に有用なものである。特に糖尿病は強い血管新生を呈し、新生された血管より供給される血液がさらに血管の増殖と過度を促進するとされているので、抗腫瘍剤としても有効である。

本発明の保護化多糖体DS-4152は、アルスロバクター・AT-25（工業技術研究所

）工芸技術研究所には、Micrococcus sp. AT-25として、PERM P-5255及びArthrobacter sp. AT-25としてPERM SP-13570（各号で寄託されている）の培養液から分離されるDP-4639（特開昭60-67301号参照）から、その中に含まれる分子量約 $1.8 \times 10^6$ 以上の蛋白質質等を蛋白質分画法、例えばゲルろ過法や膜外ろ過法、アルコール沈殿法で除くことによつて得られる。

すなわち、ゲルろ過法によればDP-4639を通過したゲルろ過粗体、例えば、セファタリル〔Sephadex G-300（ファルマシア製）〕を用いてゲルろ過を行い、得られるフラクションについて高圧ゲルろ過クロマトグラフィ

ー（高压ソーダ液 $0.3000$  SWカラム使用）を行い、検出限界（ペイド・ペリューム、 $10 \text{ fmole}$ ）にピークを示すフラクション（L部分）とペイド・ペリュームにゼークを示す分子量約 $2 \times 10^6$ ～ $8 \times 10^6$ の範囲に露出されるフラクション（H部分）を各々集め、透析する。

また、膜外ろ過は通常を用（例えばAmicon社製のTM10、TM30、XM50、PM30やMillipore社製のNOVA100、OKEGA100、NOVAGO、OKEGAGO等特にTM10）を用い、脱気ガスとなる加压またはヘリウムガス（helium gas）を用いて加压（0.5～5psi/cm<sup>2</sup>程度）し、透通量をDS-4152として求めればよい。使用溶媒は、水～エタ

ノール(10:2~3)または水が適当である。4-アセトキシ基で行なうのが一般的である。

得られた各遊離肉桂酸を濃縮後ろ過し、ろ液を数倍量のエタノール中に溶解下塩ぐことにより生成する白色沈殿を撫め、90%エタノール、エタノール、アセトシンの順に洗つた後、減圧乾燥すれば、目的とする DS 4152 (L 部分)と無活性物質 (E 部分) が各々得られる。

こうして得られる DS 4152 は以下に述べる物理化学的特性を示す。下記の性質はそのナトリウム塩についてのものである。

#### (I) 分子量 (ゲルろ過法による)

28000±3000

#### (II) 元素分析値 (5%オフの値を示す)

カル、メタノール、エタノール等の有機溶媒には溶離しない。

#### (III) 色色反応

エタノール-硫酸、アンスコーン-硫酸、ビニレート反応およびヨーリー・フォリン反応は陽性。水溶液のエルソン・カルダン反応およびユンヒドリン反応も陽性。カルバゾール反応および坂口反応は陰性。

#### (IV) 増殖性、中性、酸性の区別

pH 6~8 (3%濃度水溶液)

#### (V) 氨基酸および硫酸基、銀の含量

D-グルコース、D-ガラクトース、SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>と並びP(銀)の含有モル比はD-グルコースを1.0としてそれぞれ約1.0:6.1:7.3:6である。

#### 特開昭63-119500 (4)

C 34.42~35.76% H 3.34~3.98%

N 0.51~0.89% S 1.06~1.17%

P 0.77~1.06%

#### (VI) 酸および蛋白質の含量

酸含量(%): 6.7±3 (フェノール-硫酸法、ガラクトース標準)

蛋白質含量(%): 1±0.5 (D-グルコース標準法、牛血清アルブミン標準)

#### (VII) 比旋光度

(a)<sub>D</sub><sup>25</sup> -37°±1° (0.5%水溶液)

(VIII) 紫外吸収スペクトルにおける主要吸収帯  
1240, 840 (M), 810 (cm<sup>-1</sup>; KBr)

#### (IX) 溶解性

水に易溶。エーテル、ベンゼン、クロロホ

#### (X) 氨基アミノ酸およびアミノ酸

濃加水分解物のアミノ酸分析計による分析で、アラニン、グリシン、グルタミン酸、シアミノピメント酸、グルコサミンおよびムクミン酸の存在を認める。

以上 DS 4152 は、後記実験例で示す如く、单独でも血管新生抑制作用を有するものであるが、ステロイド類と組合せることにより、更に優れた血管新生抑制作用を示す。

尚、本発明の血管新生抑制剤においては、DS 4152 の代りにヘパリン、低分子ヘパリン等を使用することもできる。

使用、ブレドニゾロン、コロ-メチルアレドニゾロン、デキサメタゾン等のステロイドホルモンが、炎症性疾患、皮膚疾患、ヘルニア

一概に実験的に開拓された血球新生を抑制する作用を有することが報告されている

(Cancer Res. 30 1308(1970) J. Hall,

Cancer Res. 31 760(1971) J. C. Pross.

Hall, Proc. Soc. USA 78 1176(1981))。

また、ステロイドホルモンのうち、雄性コルチコイド（アレドニゾン、アレドニゾン、ペタメナゾン等）は白血病、悪性リンパ腫、乳癌、骨肉腫の治療に使用されている。

更に、アンドロスタンを母核とする男性ホルモンであるテストステロンプロピオニート、フルオキシメスチロン等が飲食療法用として用いられており、20~30%の有効率が得られると報告されている (Oncology 10 72(1964))。

ソロンカ及びその関連体（アセテート、ヘミアクシニート、フォスファート、アチルアセテート、ナトリウムフタレート、トリメタノアセテート等）；メチルアレドニゾンカ及びその関連体（アセテート、ヘミアクシニート等）；ペタメナゾンカ及びその関連体（フォスファート、バレレート等）が挙げられる。

また、グルココルチコイドOC-11位の水酸基が水素になつた異性体（たとえば、11α-エピヘキサヒドロコルチソン）も含まれるし、前記グルココルチコイドのナトラヘキサ代謝物（グルココルチコイド活性の有無は確認しない）も含まれる。

更に、荷体ホルモンであるアロゲステロン、

特開昭63-119500(5)

既にまた、アロゲステロンの関連体、テストステロンの関連体か及びエストロジニンが骨肉腫の治療に用いられている。

既に2008 4152と題せ用いこととされるステロイド類は、荷重コルチコイド類、荷体ホルモン類、エストラン類及びアンドロスタン類等であり、より具体的には次のものが開示される。

- (1) アレグナノを母核とするステロイドホルモン、すなわちグルココルチコイドであり、たとえばコルチゾンカ及びその関連体（アセテート、エナンゲート、クンデシレート等）；ヘキサヒドロコルチゾンカ及びその関連体（アセテート、ヘミアクシニート、カブロエート等）；アレドニゾンカ及びその関連体；アレドニ

メチルオキシアロゲステロンカ及びその関連体（アセテート等）、ダイドロゲストロンカ及びセオルチアセトキシ関連体（デュフェストン）等が挙げられる。

更にまた、（キラロコルチコイドであるアルドステロン、デオキシコルチコステロンカ及びその関連体（アセテート、トリメチルアセテート、エナンゲート、フェニルプロピオニート等）も挙げられる。

- (2) アンドロスタンを母核とするステロイドホルモン、すなわち、男性ホルモンであり、たとえば、アンドロステロン、テストステロンカ及びその関連体（プロピオニート、エナンゲート、アレート、カブリレート等）が挙げられる。また、エピテオスターノールカ及び

その日は、ビタミンが与えられる。さらにフルオキシメチロニン類及びその誘導体、メチルテストロン類及びその誘導体、ステノロン類及びその誘導体も含まれる。

(3) エストランを母核とするステロイドホルモン、すなわち、性ホルモンであり、たとえば、エストロン類及びその誘導体、エストラジオール類及びその誘導体(ベンゾエート、グリコベオキート、バレレート、ウンデセノエート等)、エストリオール類及びその誘導体(トリプロピオベオキート等)が与えられる。

本発明の血管新生抑制剤の用量としては、有効成分を医学的に許容される量、即ち用含有する種々の形態、例えば次または各種の被服用剤に適用せしめん用、飲用、経皮

である。医師による投与の場合は通常経口の1/5量が適量である。

また、本発明の血管新生抑制剤を抗腫瘍剤として用いる場合の投与方法及び用量も、既に上記と同じである。

#### (発明の効果)

本発明のDS-4152はそれ单独でもつても血管新生抑制作用を有するが、これを更にステロイド剤と組合せるとより強れた血管新生抑制作用を有する。

したがつて、DS-4152単独でもつても血管新生抑制剤として有用であるが、更にステロイド剤と組合せたものは相乗的に作用が増強されるので、例えば腫瘍血管の新生を抑制し、癌の増殖を防ぐ血管新生抑制剤として有

効果63-119500(6)

用、飲用、注射用、塗用等が挙げられる。

本発明の血管新生抑制剤がDS-4152とステロイド剤とを含有するものである場合、これらをそれぞれ別個に上記用法の本用に調合して組合せ用とすることも、あるいは両成分を組合せ用とし製造化することもできる。

本発明の血管新生抑制剤は、静脈内、静脉内、経口、皮下、皮膚内、粘膜内または直腸内に投与することができます。そのDS-4152は、成人の経口一日量で、DS-4152として1~2000mg程度であり、ステロイドは性ホルモン用、荷重カルチコイド用で10~1000mg、通常30~60mgが適量で、漸減していくのが好ましいことがある。ステロイド用では100~1200mgが適量

である。

#### (実施例)

次に実施例を挙げ、本発明を更に詳しく説明する。

#### 実施例1

特開昭56-67301号記載の方法により、得られたDP-4630(50g)を15mlの0.1M NaCl K溶媒し、これを0.1M NaClで平衡化したカラム(セファクリルS-300; 50×80cm)にかけて同溶媒にて通出し、1000アット圧出液を絞めた。得られたフラクションについて高速ゲル干渉クロマトグラフィー(検出ソーダ第93000UVカラム、周波数1100Hzの電気カラム温度調節器(45))を行い、ダイド・ドライームにピークを示す。

特開昭63-119500(7)

DS 4152 の物理化学的性質および生物活性を DP 4639 とびその R 部分と比較して示す。

(d) 糖、蛋白、ミクとビト含量(第1表)

第1表

	1) 糖(%)	2) ミク(%)	3) 蛋白(%)	4) ビト(%)
DS 4152	56	1.11	1.1	0.88
DP 4639	54	1.08	1.3	0.86
R 部分	42	1.29	7.6	0.72

- 1) エタノール-硫酸法(ガラクトース検定)
- 2) アントノイドスの方法(C.A.Kalesse等, *Acta Chem.Scand.*, 16, 1521 (1962))による
- 3) ハーリー・フォリン法(牛血清アルブミン検定)
- 4) チェンらの方法(P.S.Chen et al., *Anal.Chem.*, 28, 1756 (1956))による。

(e) ガラクトース、グルコース、蛋白質および  
糖の構成モル比

液体を 1 定量試験中 100℃ で 5 時間加水分解しイオン交換樹脂で脱塩処理した後、常法によりアルギドールアセテートとしてガスクロマトグラフィーで分析した。また、蛋白質および糖のモル比は、ミクとビトの含量(%)から算出した。

第2表

	ガラクトース	グルコース	蛋白質	糖
DS 4152	61	10	23	46
DP 4639	62	10	23	46
R 部分	62	10	69	46

第2表は、グルコースを 1.0 モルとした場合

各の各成分のモル比の 1 倍である。

(f) 構成アミノ酸とビタミン類の同定

DS 4152 を 3 定量試験中、100℃ で 5 時間加水分解した後、常法によりアミノ酸分析計にて分析した結果、アラニン、グリシン、グルタミン酸、シアヒノビメリン酸、グルコナミン等とビタミン類のビータを認めた。

(g) 比旋光度:  $[\alpha]_D^{20} (+=0.9, \text{水})$

第3表

	比旋光度
DS 4152	-37
DP 4639	-36
R 部分	-34

(h) グルコース濃度出バターン

第1図、第2図および第3図に、それぞれ

DS 4152, DP 4630 およびその他の高分子  
ケルギー油ターボポンプを示す(支拂ソーナ  
R 0.3000 SWカーラム使用, 压縮比1.8  
酸素カリウム吸留量 10.5, 0.04/分,  
压缩物質チャストラン $\pm$ 10 $\pm$ 2ビト $\pm$ 40)。

昭和46-119500(8)

あると規定される。

(N) 耐熱性試験

日本実用方(第10改正)に準じて行つた  
耐熱性試験の結果を表4表に示す。

(1) 紫外線吸収スペクトル

270/440水溶液において220~340 nm  
に極大吸収は認められない。

以下余白

(2) 紫外線吸収スペクトル(ESR)

1240, 840(N)  $\pm$  2ビト $\pm$  10 nm $\pm$  1K, 水  
溶液多糖化特徴的吸収を示す。

DS 4152の構造としては、主としてローブラ  
クタースとローブルコースから成る複合  
部分にエチレン基フェヌスフェートを介してベ  
ナドグリカン部の結合した複合化多糖体で

波長 nm	270	300	320	340	360	380	400	420	440
吸収上界	0.45	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
強度	0.15	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
吸収上界	0.10	0.60	1.20	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20	2.40
強度	0.20	0.20	1.00	1.20	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
吸収上界	75	150	75	150	75	150	75	150	75
強度	37.5	150	75	150	75	150	75	150	75
吸収上界	4152	4630	4152	4630	4152	4630	4152	4630	4152
強度	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

(1) DS 4152 の湿性毒性(マウス, 静注)は,  
LD<sub>50</sub> 2000 mg/kg以上である。

実施例1(1)

DP 4630 (0.02) を 500 ml の水-エ  
タノール (10:3) 混液に溶解し, THIO  
K (41.8 g, アミロン社製) を用いて, 量  
圧で加压 (1.5 kg/cm<sup>2</sup>) 下, 直圧で脱外戸  
過した。上記溶液を追加しながら透過液量が  
約300となるまで実施した。透過液の濃度 (約500)  
K 100%の硫酸ナトリウムを  
加えて溶解した後, 离心分離により得られる  
上清を約500 ml のエタノール中へ投げ下層  
下した。生成した沈殿を煮沸, 90%エタノ  
ール, エタノール, テセトンの順に洗つた後,  
減圧乾燥 (60°C, 5時間) して DS 4152

の白色粉末ヨードを得た。

このものの物理化学的性質は、次に示す通り。蛋白、S及びPの含量を除き、実験例1回のDS 4152と同一であった。

粗含量 88%

S含量 11.3%

蛋白含量 6.6%

P含量 0.92%

高圧ゲル干涸ターマトグラムを第4回に示す(0.0000 SWカラム、0.1M酢酸ナトリウム緩衝液(pH 8.8)、0.6ml/分)。

#### 実験例2

周径法凝固血管新生阻止試験(直接法)：

周径を用い、タイマーとフォータン

(Motore 207:307, 1962) の方法を一

べた。ステロイドとしては、コートコーンを0.5mg/周径の量(血管新生に影響のない量)用いた。また、比較として、DP 4639及びエニシルについてもその活性を調べた。この結果を第5表に示す。

#### 第5表

50%血管新生阻止量(ID<sub>50</sub> 値)

	DS 4152	DP 4639	エニシル
ID <sub>50</sub> 値 (mg/周径)	3	30	600

#### 実験例3

実験例2と同様な方法で、各種ステロイドとDS 4152の併用によるID<sub>50</sub> 値の変化を検討した。この結果、図1のステロイドに10

特開昭63-110500 (9)

該文載した以下の方法で行った。

馬(ノーリングクロス)の4~6日静坐用の成長度に、生理食塩水で溶解したり DS 4152 又はヘパリンを添加し、コットで增量した。

実験開始2日後に、成長度血管の発達度を生理食塩水のみを添加した对照と比較し、プロピット法により、50%血管新生阻止量(ID<sub>50</sub> 値)を算出した。

この結果、本例のDS 4152 のID<sub>50</sub> 値は、100mgでもつた。これに対し、ヘパリンは、100mgでも作用を示さなかつた。

#### 実験例4

周径法凝固血管新生阻止試験(直接法)：

実験例2と同様にして、ステロイドと

DS 4152 を併用した場合の効果について調

ID<sub>50</sub> のDS 4152 を加えれば、それぞれの周径法凝固血管新生阻止活性が10~100倍に増加することが明らかとなつた(第6表)。

#### 第6表

ステロイド	ID <sub>50</sub> 値 (mg/周径)	
	単独	DS 4152 (増加) 併用 (倍率)
コートコーンアセテート	120	0.17 (71倍)
ヘイドロコートコーン	110	0.18 (69)
ブレフロソロン	130	0.08 (163)
6α-メチルブレフロソロン	115	0.03 (383)
ベタコナゾン	0.80	0.05 (160)
アトランジロ	100	0.01 (1000)
プロゲステロン	102	0.49 (21)
メトロキシプロゲステロンアセテート	112	0.42 (27)
17β-エストラジオール	100	0.28 (70)
フルカシソステロン	124	0.12 (103)
5α-アンジロスタン	232	0.20 (8)

実験例5

血管新生阻止作用(00-0100年)：

Ds 4152 を生理食塩水に溶解し、ICR系  
マウスに皮下もしくは縫合で投与し、6日  
間後に血液を採取した。0.313%タエン酸  
ナトリウムで凝固を阻止し、直線法と同様に  
5倍的受精卵胚芽液に添加し、2日後に行  
なった。この結果を表7表に示す。

表7表

投与ルート	投与量 (mg/kg)	血管新生阻止率 (%)
縫合	3	~59
	30	264
	300	627
皮下	3	16
	30	328
	300	661

表8表

投与ルート	Ds 4152	DP 4630	百分率
皮下	92.2%	83.3%	86.6%
縫合	92.7%	84.8%	82.6%

Ds 4152 と DP 4630 は縫合、皮下  
いずれの経路によつても皮膚血管新生を抑  
制することが認められた。

実験例6

血管新生阻止作用(00-0100年)：

ICR系マウスに、生理食塩水に溶解した  
Ds 4152 を縫合投与した。ステロイドは、  
Ds 4152 と共にまたは単独で、生理食塩水  
に溶解して縫合または筋肉内投与した。

投与6時間後には止血し、0.313%タエン

新規物63-119500(10)

Cの結果から明らかとなり、月を経ての  
血管新生抑制作用が認められた。

実験例6

血管新生阻止作用(00-0100年)：

実験例5と同様にして、ステロイドと  
Ds 4152 を併用した場合の効果について調  
べた。ステロイドとしては、豚脳コーチン  
を5mg/kgの場合で用い、Ds 4152 は30  
mg/kg又は300mg/kgとなるよう調整して  
加えた。また、比較と DP 4630 及び其  
百分率を用いた。この結果を表8表に示す。た  
ゞ、表中の数値は、生理食塩水を同量投与し  
た对照マウスより採取した血液を加えた際、  
皮膚血管の見通度を100%とした時の阻止  
率である。

タエンナトリウムで凝固を阻止し、これを直線法  
と同様に5倍的受精卵胚芽液に加え、2日後  
に血管新生に及ぼす効果を判定した。結果は、  
同量の生理食塩水のみを投与したマウスの、  
6時間後過後の血流を加えた場合の皮膚血管  
の見通度を对照とし、阻止百分率で示した。  
この結果は次の表の通りである。

以下余白

試験番号63-113500(11)

実施例8

試験番号試験:

CS78L/6基マクスに同様の供給由来水  
水槽水M5076を $1 \times 10^6$  倍度下稀釋し、5  
日目よりDZ4152を30ppm/41日1回  
の割合下投与したところ、著名な試験結果  
と生存日数の有効性が認められた。すな  
わち第10表に示すように多様な188日の量  
平均生存率は对照群の37% (63%内前)  
であり、かつメテイアン生存日数が对照群よ  
り23%延長した。

生存平均重量は、試験魚の長鰭と短鰭の天  
然を測定し、以下の式から求めた。

$$\text{生存平均重量} = (\text{長鰭}) \times (\text{短鰭}) \times \frac{1}{2}$$

N.O.X	DZ 4152投与		DZ 4152投与なし		魚群平均生存率 (%)
	死生存率(%)	平均生存率(%)	死生存率(%)	平均生存率(%)	
コーナンソーラー(100)	0	77	20	76.1	
アトハーバード(100)	0	126	30	71.7	
コニクスナノーム(100)	0	123	50	60.7	
	40	62	0	16.7	
	0	224	0	22.4	
	0	242	0	24.2	
	0	270	0	27.0	

N.O.X	DZ 4152投与		DZ 4152投与なし		(%)
	死生存率 (%)	平均生存率 (%)	死生存率 (%)	平均生存率 (%)	
M5076	0	2302018 (100)	0	23	
DZ 4152 投与群	0	2062000 (97)	0	20	

(a) 試験21日目の平均生存率と生存率、(b) 平均生存率

(c) (死生存率の)メタイアン生存日数/死生存日数-1) × 100

実施例9

試験番号試験:

ICB系雄マクス(5週齢)にアルコール  
160 (8160)を $1 \times 10^6$  倍度下稀釋  
し、3日目より即座コーナンの生存水槽水  
槽周波を250ppm/4/日/日で3日間、  
100ppm/4/日/日で1日投与した。

DZ 4152は生存水槽水に溶解し、0.6L  
もしくは0.1L/マクスとなる様1日に1回  
下もしくは瓶口にて4日間投与した。多様な  
日目に投与して生存率を对照と比較したと  
ころ第11表に示す如く即座コーナンのみ  
を投与した群では生存率は生存水槽水投与  
群と差がなかったが、それとDZ 4152を投  
与することにより著者を作用が明らか

ル、打開率の結果は2000~125%であ  
つた。

基 础	重 濃 度	
	平均値± 標準誤差	T/c%
生理食塩水(%)	Q361± Q101	1000
生理食塩水(%)	Q361± Q122	1000
赤藻コーナン	Q340± Q162	942
DS 4152 (Q11g/***** g)	Q361± Q070	1000
DS 4152 (Q1g/***** g)	Q261± Q077	723
DS 4152 (Q01g/***** g) +赤藻コーナン	Q063± Q018	125°
DS 4152 (Q1g/***** g) +赤藻コーナン	Q028± Q011	24°
DS 4152 (Q01g/***** g)	Q322± Q071	824
DS 4152 (Q1g/***** g)	Q558± Q115	908
DS 4152 (Q01g/***** g) +赤藻コーナン	Q063± Q036	161°
DS 4152 (Q1g/***** g) +赤藻コーナン	Q038± Q018	49°

\* T<Q08, \*\* P<Q01 ステークメント  
検定による

### 試験例3-110500 (12)

#### 実用例1.0

##### 試験用:

DS 4152 6g, 丸薬300g, トウモ  
コシデンアン144g, カルボキシルカル  
ボースカルシウム30g及びヒドロキシ  
アルカリカルボス30gを用い、方法に従つ  
て800WON使用を実験した。この試験用  
は液体カルボス1850.0g~5gを服用  
する。

#### 実用例1.1

##### 試験用:

DS 4152 1.2g, 塩化カルシウム90  
gを注射用滅菌水に溶解し、10mlとする。  
この溶液をノンアランフィルターでろ過した  
後、アンプルに充填し、1.15gで30分間

放置し使用用とする。

#### 実用例1.2

##### 試験用:

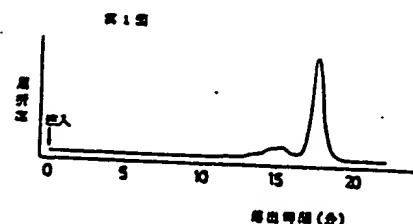
DS 4152 6g, プレアミソーン20g,  
丸薬50g, トウモコシデンアン135g,  
カルボキシルカルボースカルシウム5g,  
ヒドロキシアルカリカルボス30g及びステ  
アリン酸マグネシウム0.5gを液体カルボス  
混合、打鍛し、1袋とする。

#### 4 図面の簡単な説明

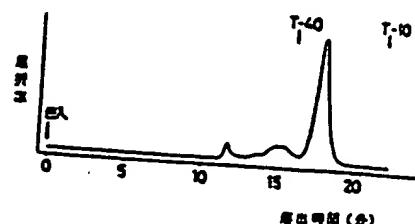
図1図ないし図4図は高濃度ゲルアミドタマ  
トガムである。

以 上

#### 図1图



#### 図2图



検査票 63-119500 (13)

図3

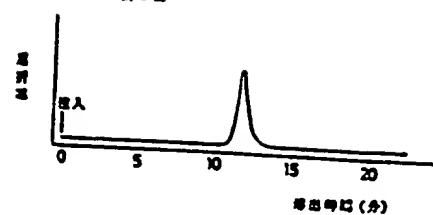
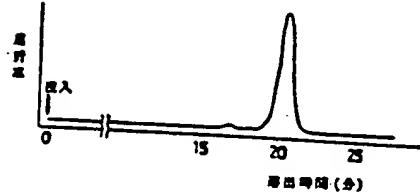


図4



第1頁の焼き

①Int.Cl.*	規別記号	厅内整理番号
A 61 K 31/723 37/02	ADU	8615-4C
C 08 B 37/00	ABE	6779-4C
C 12 P 19/04		C-8515-4B
I(A 61 K 31/723 31/58)		7252-4C

②発明者 小河 真正 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内